

**PROMOTER FOR CHEMOKINE PRODUCTION**

**Patent number:** JP2000336034  
**Publication date:** 2000-12-05  
**Inventor:** KONISHI JINEMON; ANSARI AFTAB A; GERSHWIN ERIC M  
**Applicant:** NIPPON ZOKI PHARMACEUTICAL CO  
**Classification:**  
- international: A61K35/36; A61P31/18  
- european:  
**Application number:** JP20000075862 20000317  
**Priority number(s):** JP19990075122 19990319; JP20000075862 20000317

**Report a data error here**

**Abstract of JP2000336034**

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To obtain the subject promoter having high safety and especially useful as a therapeutic agent for AIDS without exhibiting adverse effect which existing inhibitors exhibit by including an extract from inflammatory tissue inoculated with vaccinia virus. **SOLUTION:** This promoter for chemokine production comprises an extract from inflammatory tissue inoculated with vaccinia virus. The inflammatory tissue is preferably a skin tissue, especially inflammatory skin tissue of rabbit and the above chemokine is preferably MIP-1&alpha , MIP-1&beta or RANTES and further, an extract of active ingredient is protein free and is positive for ninhydrin reaction, orcinol reaction and molybdenum blue reaction. The administration method includes e.g. subcutaneous, intramuscular and in-travenous administrations by injections and oral administration by tablets and the dose is, in principle, 16 neurotrophin units (NU) per day by oral administration and 3.6-7.2 Nu per day by injection, respectively.

---

Data supplied from the *esp@cenet* database - Worldwide

**PATENT ABSTRACTS OF JAPAN**

(11)Publication number : 2000-336034

(43)Date of publication of application : 05.12.2000

(51)Int.Cl.

A61K 35/36

A61P 31/18

(21)Application number : 2000-075862

(71)Applicant : NIPPON ZOKI PHARMACEUT CO LTD

(22)Date of filing : 17.03.2000

(72)Inventor : KONISHI JINEMON

ANSARI AFTAB A

GERSHWIN ERIC M

(30)Priority

Priority number : 11075122    Priority date : 19.03.1999    Priority country : JP

**(54) PROMOTER FOR CHEMOKINE PRODUCTION**

(57)Abstract:

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To obtain the subject promoter having high safety and especially useful as a therapeutic agent for AIDS without exhibiting adverse effect which existing inhibitors exhibit by including an extract from inflammatory tissue inoculated with vaccinia virus.

**SOLUTION:** This promoter for chemokine production comprises an extract from inflammatory tissue inoculated with vaccinia virus. The inflammatory tissue is preferably a skin tissue, especially inflammatory skin tissue of rabbit and the above chemokine is preferably MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$  or RANTES and further, an extract of active ingredient is protein free and is positive for ninhydrin reaction, orcinol reaction and molybdenum blue reaction. The administration method includes e.g. subcutaneous, intramuscular and intravenous administrations by injections and oral administration by tablets and the dose is, in principle, 16 neurotrophin units (NU) per day by oral administration and 3.6-7.2 Nu per day by injection, respectively.

**LEGAL STATUS**

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2000-336034

(P2000-336034A)

(43) 公開日 平成12年12月5日 (2000.12.5)

(51) Int.Cl.<sup>7</sup>

識別記号

F I

データベース(参考)

A 6 1 K 35/36

A 6 1 K 35/36

4 C 0 8 7

A 6 1 P 31/18

A 6 1 P 31/18

審査請求 未請求 請求項の数 8 O L (全 4 頁)

(21) 出願番号 特願2000-75862(P2000-75862)

(22) 出願日 平成12年3月17日(2000.3.17)

(31) 優先権主張番号 特願平11-75122

(32) 優先日 平成11年3月19日(1999.3.19)

(33) 優先権主張国 日本 (J P)

(71) 出願人 000231796

日本臓器製薬株式会社

大阪府大阪市中央区平野町2丁目1番2号

(72) 発明者 小西 甚右衛門

大阪市中央区平野町2丁目1番2号 日本

臓器製薬株式会社内

(72) 発明者 アフタブ・エー・アンサリ

アメリカ合衆国、ジョージア30322、アト

ランタ、エモリー大学医学部内

(74) 代理人 100068917

弁理士 村山 佐武郎

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ケモカイン産生促進剤

(57) 【要約】

【課題】エイズ治療に有効なケモカイン産生促進剤を提供する。

【解決手段】本発明ケモカイン産生促進剤の有効成分はワクシニアウイルス接種炎症組織抽出物である。

【効果】ワクシニアウイルス接種炎症組織抽出物はCD8陽性T細胞由来のHIV抑制因子であるMIP-1 $\alpha$ 、MIP-1 $\beta$ 、RANTES等のケモカインの産生を促進する作用を有し、またサルスの免疫不全ウイルス(SIV)の感染・増殖を抑制する効果が認められた。ワクシニアウイルス接種炎症組織抽出物は極めて副作用の少ない薬剤として知られており、これを有効成分として含有する本発明薬剤は、既存のエイズ治療薬である逆転写酵素阻害剤やプロテアーゼ阻害剤とは全く異なる新規な作用機序に基づくエイズ治療剤として、且つ副作用もほとんど発現しない安全性の高い薬剤として有用性の高いものである。

**【特許請求の範囲】**

【請求項1】 ワクシニアウイルス接種炎症組織抽出物を有効成分として含有するケモカイン産生促進剤。

【請求項2】 ケモカインがMIP-1 $\alpha$ 、MIP-1 $\beta$ 又はRANTESである請求項1記載のケモカイン産生促進剤。

【請求項3】 炎症組織が皮膚組織である請求項1又は2記載のケモカイン産生促進剤。

【請求項4】 ウサギの炎症皮膚組織である請求項3記載のケモカイン産生促進剤。

【請求項5】 有効成分の抽出物が、非蛋白性で、ニンヒドリン反応陽性、オルシノール反応陽性、モリブデンブルー反応陽性である請求項1乃至4のいずれか一項記載のケモカイン産生促進剤。

【請求項6】 エイズ治療薬である請求項1乃至5のいずれか一項記載のケモカイン産生促進剤。

【請求項7】 注射剤である請求項1乃至6のいずれか一項記載のケモカイン産生促進剤。

【請求項8】 経口剤である請求項1乃至6のいずれか一項記載のケモカイン産生促進剤。

**【発明の詳細な説明】****【0001】**

【発明の属する技術分野】本発明は、ワクシニアウイルス接種炎症組織抽出物の新規な薬理作用に関するものであり、具体的にはワクシニアウイルス接種炎症組織抽出物を有効成分として含有するケモカイン産生促進剤に関する。

**【0002】**

【従来の技術】Cocchi等は、CD8陽性T細胞の培養上清中に存在する抗HIV活性物質を精製し解析した結果、MIP-1 (macrophage inflammatory protein 1)  $\alpha$ 、MIP-1 $\beta$ 、RANTES (regulated on activation, normal T expressed and secreted) などの $\beta$ ケモカイン (CCケモカイン) が主要な構成成分であることを明らかにした (1995年、Science、270、1811頁)。 $\beta$ ケモカインに対する抗体により、CD8陽性T細胞の培養上清中に存在する抗HIV活性は中和され、またHIV-1、HIV-2及びSIVの複製は、遺伝子組換えにより作製されたヒトMIP-1 $\alpha$ 、MIP-1 $\beta$ 及びRANTESによって、濃度依存的に抑制された。

【0003】現在使用・開発されているエイズ治療薬は、アジドチミジン等の逆転写酵素阻害剤とプロテアーゼ阻害剤が主であり、これらはウイルスそのものの増殖を阻止する薬剤である。医療の現場ではこれらの薬剤を組み合わせたカクテル療法が用いられており、ある程度効果が認められている。このように、今のところエイズに対する効果的な治療法としては、カクテル療法のように複数の薬剤を組み合わせる治療法が実施されており、従って、既存の薬剤とは異なる作用機序に基づく新規なエイズ治療剤が望まれている。上述したように、MIP-1 $\alpha$ 、MIP-1 $\beta$ 、RANTESはHIV抑制因子として注目されつつあり、これらケモカインの産生を促進する物質は、

新たな作用機序に基づく抗HIV剤として期待されるものである。

**【0004】**

【発明が解決しようとする課題】本発明者らは、ワクシニアウイルス接種炎症組織抽出物の薬理活性に関して種々の試験研究を行った結果、該物質がHIV抑制因子であるMIP-1 $\alpha$ 、MIP-1 $\beta$ 、RANTESの産生を促進する作用を見出した。

**【0005】**

【課題を解決するための手段】本発明の目的は、新しい作用機序に基づくエイズ治療剤として有用であり、既存の逆転写酵素阻害剤やプロテアーゼ阻害剤が呈するような副作用を呈することのない安全性の高い医薬を提供することにある。

**【0006】**

【発明の実施の形態】ウイルス等の外界からの侵襲や内的な病態状態の進行に対して、過剰反応に対する抑制作用と機能低下に対する増強作用という二相性をもって生体はその恒常性を維持し、生体機能を調整し正常化するために種々の生体機能調整物質を産生することが知られている。例えばワクシニアウイルスを接種した炎症組織において産生される生体機能調整物質、該物質を病態組織から抽出する製造方法並びにそれらの薬理活性については種々報告されている (特公昭63-39572号公報、特公昭63-25600号公報、特公平3-43279号公報、特許第259422号公報など)。

【0007】また実際の医薬品としてはワクシニアウイルス接種家兎炎症皮膚抽出物製剤がある。この製剤は例えば医療薬日本医薬品集 (1998-99・第22版、日本医薬情報センター編、薬業時報社発行) の1927-1928頁に記載されているように、ワクシニアウイルスを接種した家兎の炎症皮膚組織から抽出分離した非蛋白性の活性物質を含有する薬剤であり、腰痛症、頸肩腕症候群、肩関節周囲炎、変形性関節症、症候性神経痛、皮膚疾患 (湿疹、皮膚炎、じんま疹) に伴う掻痒、アレルギー性鼻炎、スモン後遺症状の冷感、痛み、異常知覚等に対する適応が認められており、皮下、筋注、静注用の注射剤並びに錠剤が医療用医薬品として製造承認を受けて市販されている。

【0008】本発明ケモカイン産生促進剤の有効成分は上述したようなワクシニアウイルス接種炎症組織から抽出した非蛋白性の生体機能調整物質であり、前記の医療薬日本医薬品集にも掲載されているワクシニアウイルス接種家兎炎症皮膚抽出物製剤は医薬品の製造承認を受け市販されており入手可能である。また上述した特許公報等の文献に記載されている種々のワクシニアウイルス接種炎症組織抽出物が本発明物質として利用でき、それらの製造方法や好ましい投与量なども文献中に説明されている。例えば、本発明ケモカイン産生促進剤の有効成分であるワクシニアウイルス接種炎症組織抽出物は、非蛋

白性で、ニンヒドリン反応（アミノ酸）陽性、オルシノール反応（ペントース）陽性、モリブデンブルー反応（リン）陽性である。また、それが水溶液の場合は265乃至275nmに紫外外部吸収の極大があり、pH 6.0乃至8.3である。

【0009】患者に対する投与方法は、注射剤による皮下、筋注、静注投与並びに錠剤による経口投与が市販薬剤では認められているが、その他疾患の種類に応じて、その治療に最適な上記以外の剤形による投与方法も可能である。投与量はワクシニアウイルス接種炎症組織抽出物の種類によって適宜設定すべきであるが、市販薬剤で認められている投与量は、前記の医療薬日本医薬品集（1927頁）によれば、基本的には内服では1日16ノイロトロビン単位（NU）、注射剤では1日3.6乃至7.2NUを投与するよう医療用医薬品としては示されているが、疾患の種類、重症度、患者の個人差、投与方法、投与期間等によって適宜増減可能である。

【0010】以下に、ワクシニアウイルス接種炎症組織抽出物の新規な薬理作用に関する試験結果を示す。

【0011】

【実施例】（1）ケモカイン産生促進作用

正常で健康な無感染のアカゲザルから末梢血単核球（PBMC）を常法に従って調製した。即ち、ヘパリン血を150×gで10分間遠心し血漿を除いた後、細胞を除いた血漿

と同量の100U/mLペニシリン-100μg/mLストレプトマイシン、2mM L-グルタミンを添加したRPMI-1640（以下、単に培地と言う）で再度懸濁した。血球懸濁液をFicol-hypaque（Sigma Biochem.社製、St. Louis, MO）上に重層し450×gで勾配遠心した。中間層の単核球を吸引し、10%ウシ胎児血清を含む培地に再懸濁した。細胞懸濁液の一部を計数し、PBMCの濃度を実験に必要な値に合わせた。このように調製したPBMCを至適濃度のPHA-Pと各種濃度の被検物質（ワクシニアウイルス接種家兔炎症皮膚抽出物製剤：商品名ノイロトロビン）を含む培地中で $2 \times 10^6$  cells/mLの細胞密度で培養した。培養は5%二酸化炭素存在下、37°Cで3日間行い、細胞洗浄後、同一濃度の被検物質と共にSIVmac251を2時間感染させた。次いで、非結合ウイルスを除くため培養を洗浄し、同じ濃度の被検物質を含む培地中で継続して培養した。その後、同一の濃度の被検物質を含む培地で培地交換を週に2回行い培養を維持した。10日間培養した後、培養から得られた上清中のMIP-1α、MIP-1β、RANTESを酵素免疫アッセイ法（EIA）によって測定した。結果の一例を表1に示す。表中の%の値は、被検物質を投与しない対照群におけるケモカイン量を100%として算出したものである。

【0012】

【表1】

ケモカイン種	0.1μg/mL投与群	1μg/mL投与群
MIP-1α	118.6%	174.8%
MIP-1β	131.4%	212.6%
RANTES	101.4%	127.2%

【0013】（2）標的細胞へのSIV感染・増殖抑制作用

表1に示した結果より本発明物質はHIV抑制因子であるMIP-1α、MIP-1β、RANTESの産生を促進する作用が認められた。そこで、上記（1）と同様の試験系を用いて、標的細胞へのウイルス感染・増殖に対するワクシニアウイルス接種炎症組織抽出物の効果を調べた。ウイルスの定量は、細胞培養上清中のp27レベルを、p27EIA kit（Coulter Corp.社製、Hialeah, FL）を用いて測定することによって行った。その結果、例えば上記被検物質（1μg/mL）を用い、SIV感染後10日間培養した培養上清中のp27量は、対照群の1/10乃至1/4に減少しており、培養液中の顕著なSIV量の低下が見られた。培養上清のp27レベル測定に加え、上清のRT-PCRと細胞のQC-RT-PCRも行った結果、上記p27レベルの結果を再現するものであり、本発明物質のウイルス抑制作用は培養上清および細胞内両方のウイルスRNAレベルにおいて観察された。

【0014】

【発明の効果】上記の薬理試験結果より明らかなように、本発明物質はCD8陽性T細胞由来のHIV抑制因子であるMIP-1α、MIP-1β、RANTES等のケモカインの産生を促進する作用を有する。またそれに関連して、サル免疫不全ウイルス（SIV）の感染・増殖を抑制する効果が認められた。ワクシニアウイルス接種炎症組織抽出物は長年にわたって市販・使用されている製剤もあり、極めて副作用の少ない薬剤として知られている。これに対してエイズ治療に現在使用されている逆転写酵素阻害剤やプロテアーゼ阻害剤は重篤な副作用を呈するものであり、エイズ治療の現場ではこれら既存の薬剤よりも副作用が少なく安心して使用できる薬剤が望まれている。本発明薬剤は新規な作用機序に基づく抗HIV剤であり、副作用もほとんど発現しない安全性の高い薬剤として有用性の高いものである。

フロントページの続き

(72)発明者 エム・エリック・ガーシュイン  
アメリカ合衆国、カリフォルニア95616、  
デービス、カリフォルニア大学デービス校  
医学部内

Fターム(参考) 4C087 AA01 AA02 BB48 BB63 MA52  
MA66 NA14 ZC55